动 物 学 研 究 1999, Oct. 20 (5): 327～331 CN 53－1040/Q ISSN 0254－5853
Zoological Research

# 频繁使用染发剂对小鼠染色体畸变率影响的研究

熊习昆 梁雪梅 蔡 玟 谢晓萍 古梅英 陆凌霞
(广东省卫生防疫站 广州 510300)

TQ618.34

**摘要**：研究了多次接触7种染发剂对不同组小鼠骨髓和生殖细胞染色体畸变率的影响。结果发现，7种染发剂均导致出现较高的染色体畸变率，3种能引起小鼠骨髓细胞染色体畸变率显著上升，其中以粉末状染发剂的影响最为严重。4种染发剂对进行生殖细胞染色体畸变实验的小鼠均产生显著影响，尤以氧化型染发剂最为明显。

**关键词**：染发剂，染色体畸变，骨髓细胞，生殖细胞
**中图分类号**：Q959.837 **文献标识码**：A **文章编号**：0254－5853(1999)－05－0327－05

染发剂是一类广泛使用的特殊用途化妆品。按其着色的牢固程度一般分为暂时性染发剂、半永久性染发剂、永久性染发剂3大类。按来源及其作用方式又可分为颜料（色素）类染发剂、植物性染发剂、金属盐类染发剂、氧化型染发剂等。70年代后，各国生产和使用的染发剂种类、数量不断增加，人们对染发剂的使用安全性也开始引起重视。Ames（1975）用细菌测试系统对169种染发剂进行检验，发现其中有150种有致突变作用。此后，许多学者对不同种类的染发剂及其主要组分进行了多方面的研究，取得了一些有意义的结果。在我国，染发剂的大量生产与使用较晚，对染发剂的毒理学研究相对不足。目前，我国染发剂的生产和销售呈不断增加的趋势，国内不少学者也相继发现一些染发剂存在一定的问题。以往的实验多在一次性接触染发剂的基础上进行，而染发剂在实际生活中一般以间断性的多次使用为主。因此，有必要对多次使用染发剂后可能导致的潜在性危害进行深入研究。本文选择了有一定代表性的几种不同类型的染发剂对小鼠进行多次接触实验，以观察频繁接触染发剂对动物体细胞和生殖细胞可能造成的影响并评估其使用安全性，现将结果报道如下。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物

NIH品系小鼠，由广东省医学实验动物中心提供。随机分为A、B、C（共设对照组1）、D、E、F、G（共设对照组2）7个实验组，每组10只，雌雄各半，体重18～22 g。

### 1.2 实验材料

国产的7种不同类型（醋酸铅、对苯二胺）和剂型（粉状、膏状、摩丝等）染发剂，分别对应于上述7组实验动物。

### 1.3 染毒方法

粉末状染发剂以1:5水溶稀释，乳、膏、摩丝状染发剂不稀释。将约0.2 mL染发剂摸拟染发过程，均匀涂抹于对应组的小鼠背部皮毛上，每周染毒两次，持续23 d（贯穿小鼠生精细胞的发生过程），共染毒7次。

### 1.4 制片与观察

于最后1次染毒后第2天进行染色体标本的制备。实验前按4 μg/g体重对小鼠进行腹腔注射秋水仙素，4 h后脱颈椎处死，分别取其股骨和睾丸进行骨髓细胞和生精细胞染色体制片。

①骨髓细胞染色体标本：取股骨以空气干燥法制片，5%的Giemsa磷酸盐缓冲液染色、镜检。每一实验组按GB7918－87的要求，选取5个个体进行染色体畸变观察。

②生精细胞减数分裂染色体标本：取雄鼠睾丸参照施立明（1985）的方法制片，10%的Giemsa磷酸盐缓冲液染色、镜检。本次实验仅对D、E、F、G 4组动物进行了减数分裂分析。

收稿日期：1999－03－31，修改稿收到日期：1999－04－29

## 2 实验结果

骨髓细胞染色体观察染色体畸变现象及比率；生精细胞染色体观察精母细胞减数分裂浓缩期及中期Ⅰ的分裂相，统计性染色体和常染色体的单价体、易位多价体（链和环）的出现率。结果见表1和表2。

表1 接触染发剂小鼠骨髓细胞染色体畸变结果

Table 1 Hair dye induce the chromosome aberration of bone marrow cell

| 染发剂编号 (groups) | 样品 $LD_{50}$值/mg·kg$^{-1}$ (value of $LD_{50}$) | 观察细胞数 (cells) | 染色体畸变率/% (chromosome aberration) | $t$ 值 ($t$-value) | 性状及主要成分 (charector and composition) |
|---|---|---|---|---|---|
| A | 3 690 | 255 | 10.2** | 3.78 | 粉状，不详 |
| B | 17 100 | 500 | 5.4 | 1.43 | 膏状，对苯二胺+间苯二酚 |
| C | 5 840 | 500 | 13.8** | 5.98 | 粉状，间苯二酚+2，4二氨基苯酚 |
| 对照1 | — | 514 | 3.6 | | |
| D | 4 300 | 501 | 9.6 | 1.86 | 双剂氧化型，对苯二胺+对氨基酚 |
| E | 3 010 | 508 | 14.4** | 4.17 | 粉状，添加中草药 |
| F | >10 000 | 500 | 8.8 | 1.43 | 膏状，醋酸铅类 |
| G | >10 000 | 500 | 9.0 | 1.54 | 双剂氧化型，对苯二胺 |
| 对照2 | | 500 | 6.4 | | |

A组8只动物染毒期死亡，** $P<0.01$，数据由SPSS软件统计处理（eight mice in group A died before the chromosome preparation；** $P<0.01$，the data dealt with SPSS software）。

表2 染发剂对小鼠生精细胞染色体畸变率的影响

Table 2 Hair dye induce the chromosome aberration of germinal cell

| 染发剂编号 (groups) | 动物数/只 (number of animal) | 观察细胞数 (cells) | 染色体畸变率/% (ratio chromosome aberration) 单价体 (monovalent) X，Y | 常染色体 | 易位多价体 (quadrivalent) |
|---|---|---|---|---|---|
| D | 5 | 192 | 13.0 | 12.0 | 3.1** |
| E | 5 | 128 | 13.3 | 9.4 | 4.7** |
| F | 5 | 143 | 11.2 | 11.9 | 2.8** |
| G | 5 | 256 | 15.2 | 8.6 | 5.9** |
| 对照2 | 5 | 242 | 8.7 | 9.9 | 0.0 |

与对照组比较 ** $P<0.01$，数据由SPSS软件统计处理（compare with the control，** $P<0.01$，the data dealt with SPSS software）。

已知NIH小鼠是一种对诱变剂敏感的动物品系。正常NIH小鼠的骨髓细胞有40条端着丝粒染色体，观察可见少量的自发畸变，这类畸变多以断裂出现。在染发剂染毒组小鼠中我们发现，所有类型的染发剂均导致比对照组高的染色体畸变率出现，其中有3组（A，C，E）与对照组相比有显著的统计学差异（$P<0.01$），这些畸变也多为断裂和断片，但间或有较严重的环状染色体现象出现（图1D）。因出现的频率较低，所以未将其单独与对照组进行比较，而将每一环状染色体的出现记为2次断裂。

小鼠正常的减数分裂中期Ⅰ细胞有19个常染色体双价体和1个端－端配对的性染色体双价体（X，Y）。自发的畸变常见有少量分离的X，Y染色体和常染色体单价体，少见断裂与断片。在染发剂染毒进行生殖细胞染色体畸变实验的所有4组（D，E，F，G）NIH小鼠中，观察到其性染色体和常染色体单价体出现频率一般比对照组高，但无统计学差异；其中观察到较高的易位多价体出现率，如环状四价体、链状四价体等，有时还伴有染色体断片出现（图1：E，F）。其中以对苯二胺氧化型染发剂（G，D）及粉末状染发香波（E）组的畸变率较高，醋酸铅类染发剂（F）的畸变率较低，与对照组相比均有极显著差异（$P<0.01$）。

## 3 讨 论

实验中发现染发剂在NIH小鼠中诱发的染色体畸变有多发于某一特定染色体的现象（图1：A，B，C），可能NIH小鼠染色体中存在着对染发剂的特定敏感位点，或者是脆性部位。从实验结果看粉末状染发剂（A，C，E）诱发的骨髓细胞染色体畸变作用较强，3种粉末状染发剂染毒组均与对照组有显著差异；对苯二胺氧化型染发剂（B，D，G）对骨髓细胞的致畸作用相对较弱，与对照组相

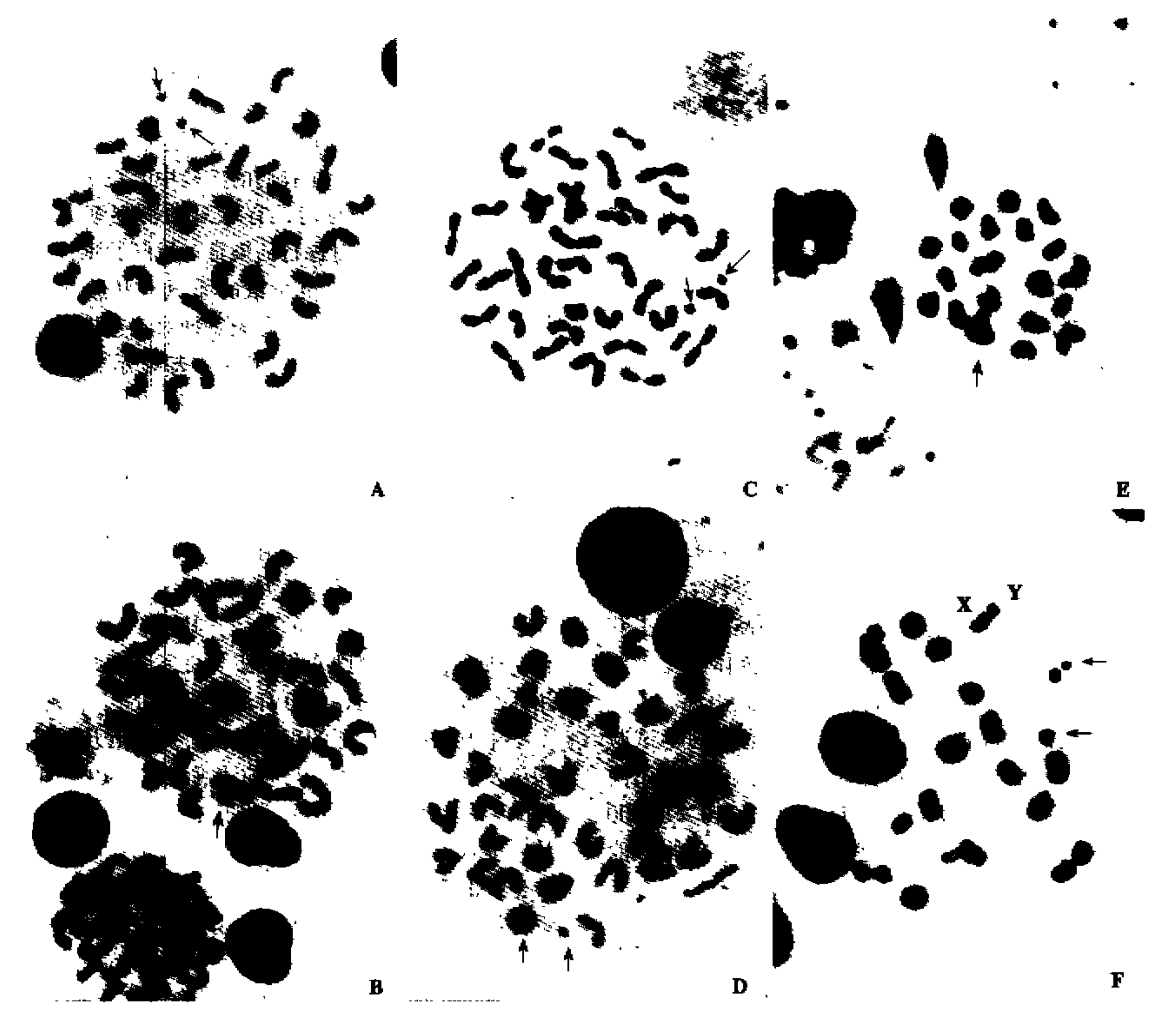



图 1　频繁使用染发剂对小鼠骨髓细胞染色体及生殖细胞染色体畸变率的影响

Fig. 1　Chromosomal aberration of mouse bone marrow cells and germinal cells induced by hair dyes

A，B，C. 示骨髓细胞染色体断裂（breaks of chromosome of bone marrow cell）；D. 示骨髓细胞染色体环和断片（fragment and ring of chromosome of bone marrow cell）；E. 示生殖细胞链状四价体（chain-quadrivalent of chromosome of germinal cell）；F. 示生殖细胞单价体和断片（fragment and monovalent of chromosome of germinal cell）。

比无显著差异。而在小鼠生精细胞染色体畸变实验中，粉末状（E）、醋酸铅（F）、氧化型（D，G）的所有 4 种染发剂均对其产生较强的致畸作用，提示增殖过程更快的生殖细胞对染发剂的致畸作用可能更为敏感。

醋酸铅类染发剂是一种渐进性金属染发剂。有资料报道，目前美国的男用染发剂有 23% 为含醋酸铅的重金属盐类染发剂（Casperson，1994）。80 年代前，铅不被认为是致突变剂，也不是肯定的致癌剂（袁宝珊，1991）。但接触一定浓度的铅将对动植物产生伤害作用，现已为许多中外学者所证实。刘爱华等（1990）发现铅可导致触铅工人的外周淋巴细胞染色体畸变率和 SCE 显著升高；Lerda（1992）发现在质量浓度为 0.1 至 200 mg/L 的硝酸铅溶液中，洋葱根尖的分生组织在较低浓度出现生长减慢或染色体畸变，而在较高浓度中 24 h 后不能生长，结果呈现剂量反应关系。还有许多学者证实，铅会对中枢神经、内分泌、生殖系统等产生伤害作用，甚至浓度低达 1.5 mg/kg 时，这类伤害仍能发生，并且，母体的铅能通过胎盘和乳汁传至下一代，引起子代脑发育不良。从我们的实验结果来看，醋酸铅类染发剂既可引起小鼠骨髓细胞染色体

畸变率上升，又可影响其精母细胞减数分裂的正常进行。而生殖细胞中的平衡易位可传至下一代，对整个人类种群的基因库造成负面影响，长期使用其后果令人担扰。

染发剂在我国主要用以染黑发，以含对苯二胺、间苯二胺及其一些衍生物的氧化型染发剂占绝对的优势，其主要成分约20余种。一般含1%～1.5%的对苯二胺，部分还含0.5%的对氨基酚等。我们选择的几种染发剂样品也是如此。国外一些学者在对染发剂的某些主要成分进行的细胞遗传学研究中，很少有阳性结果出现（王莉莉等，1989）。从我们的实验结果看，频繁接触染发剂的NIH小鼠，其体细胞染色体畸变率与该两类物质也看不出有直接联系。曾有人发现，商品型2－（2′,4′－二氨基苯氧基）乙醇（染发剂组成成分之一）在实验中比纯品的致突变能力大8倍，但在将该物质提纯后，其致突变能力明显降低，接近纯品水平（王莉莉等，1989），说明染发剂诱发的染色体畸变可能主要以较复杂的混合物的协同作用方式出现。

在我们对数种进口染发剂的普通毒理学试验中，发现同为苯胺类衍生物为主要成分、但颜色不同因而配方不同的染发剂，其$LD_{50}$值在2 710≥10 000 mg/kg之间，也意味着上述推断确有存在的可能性。

黄华等（1990）以Ames试验检测了数种国产染发剂的致突变性，发现它们在加入S9时，对TA98菌株均有致突变作用。宋芬等（1990）、赵泽贞等（1992）在对另外的一些染发剂的研究中，则发现有的染发剂在不加入S9时，也具致突变性，显示其有直接的致突变作用。宋芬等（1990）还发现4种染发剂中的3种能引起小鼠骨髓细胞微核率显著升高。施金莲等（1993）在使用染发剂的志愿人群中，发现其头发毛囊细胞微核率显著升高，同时发现，涂抹染发剂的Wistar大鼠骨髓细胞和多染性红细胞及其胎鼠脐带血多染性红细胞微核率显著升高，且后者高于前者约1倍，显示染发剂可能有一定的生物富集作用。据所查阅到的资料，在我国学者报道的32种染发剂实验中，具致突变性的占66%，说明其潜在危害不容忽视。

值得注意的是，在我们的实验中，观察到1组小鼠在连续多次染毒时，有8只动物逐渐衰竭死亡，并且在我们同时进行的染毒小鼠胚胎毒性效应观察中，统计到有5组小鼠的雌鼠有胚胎死亡现象。在本实验之前，尚未见染发剂对生殖细胞功能有影响的报道。但在本实验中，却显示染发剂对NIH小鼠生精细胞染色体畸变率有明显影响，具体表现为减数分裂过程中易位多价体的显著增高，说明通过皮肤吸收的染发剂有可能透过血睾屏障对生殖细胞产生影响。

近年来，彩色染发剂在我国市场上不断涌现，除小部分是进口产品外，大多是我国化妆品生产企业近年研制及开发出来的产品，其色彩内容多种多样，所含有效成分则变化更多、更复杂，其长期使用后会否出现问题，尚有待进一步研究。

染发剂有着广阔的市场前景，美国近几年仅男用染发剂就以每年12万份的速度递增，1992年达120万份。我国使用染发剂的人数目前尚无法估计，但根据卫生部监督司的资料，目前我国正式批准生产的染发剂以每年数十种的速度上升，由此可看出染发剂生产和销售的强劲势头。由于染发剂是一个复杂的系列混合物，其广泛的使用范围和巨大的数量，将使其微小的有害效应得到充分的扩大。因此，为了保证消费者的使用安全和社会的风险控制，加强染发剂的毒理学研究，严格染发剂的生产和销售管理，指导人们正确认识与使用染发剂，已是我们目前刻不容缓的任务。

**致　谢**　本文承广东省卫生防疫站马幼联主任审阅，特此致谢！

## 参考文献

王莉莉，1989.氧化型染发剂致突变性及致癌性的研究进展[J].国外医学(卫生分册)，3：140～144.

刘爱华，贺维顺，熊习昆等，1990.职业性接触砷、铅工人外周淋巴细胞染色体畸变和姐妹染色单体交换率的变化[J].动物学研究，11(2)：103～108.[Liu A H, He W S, Xiong X K *et al*, 1990. Chromosome aberrations and sister chromatid exchanges of workers occupationally exposed to arsenic and lead. *Zoological Research*, 11(2)：103－108.]

刘爱华，贺维顺，林世英等，1991.五种云锡矿粉和四种金属化合物对大鼠骨髓细胞和肺巨噬细胞微核率的影响[J].动物学研究，12(3)：309～313.[Liu A H, He W S, Lin S Y *et al*, 1991. Micronuclei of rat bone marrow cells and lung macrophages induced by five

kinds of Yunnan tin ore powder and four kinds of metallic compound. *Zoological Research*, 12(3): 309 - 313.]
孙淑云，1990. 醋酸铅对小鼠生殖细胞超微结构作用的研究[J]. 卫生毒理学杂志，4(1): 35.
宋 芬，梁雪威，银 燕等，1990. 染发剂经皮肤吸收对小鼠骨髓细胞微核率的影响[J]. 癌变·畸变·突变，2(3): 29～30.
赵泽贞，黄民提，魏丽珍，1992. 对 49 种化妆品的致突变性研究[J]. 癌变·畸变·突变，2(2): 32～33.
施立明，1985. 顺铂对雄性小鼠生殖细胞的细胞遗传学效应[J]. 遗传学报，12(5): 362～366. [Shi L M, 1985. Cytogenetic effects of cisplatin on germinal cells of the male mouse. *Acta Genetica Sinica*, 12(5): 362 - 366.]
施金莲，马桂芝，蒋 葵等，1993. 化学染发剂和冷烫精的毒性及对人体健康影响的调查研究[J]. 环境与健康，10(6): 250～252.
袁宝珊，1991. 环境污染物致突变性、致癌性、致畸性. 兰州：兰州大学出版社.
黄 华，陈秉衡，戴修道，1990. Ames 试验检测国产染发剂的致突变性[J]. 环境与健康，7(2): 67～69.
Ames B N, Kammen H O, Edith Yamasaki *et al*, 1975. Hair dyes are mutagenic: identification of a variety of mutagenic ingredients[J]. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 72: 2423 - 2427.
Casperson S, 1994. Men's hair coloring[J]. *Cosm. & Toil.*, 109(2): 83 - 87.
Lerda D, 1992. The effect of lead on *Allium cepa* L[J]. *Mutat Res.*, 281: 89 - 92.

# STUDY ON CHROMOSOMAL ABERRATION OF MOUSE BONE MARROW CELLS AND GERMINAL CELLS INDUCED BY HAIR DYES

XIONG Xi-kun LIANG Xue-mei CAI Min XIE Xiao-ping GU Mei-ying LU Ling-xia
(*Health and Epidemic Prevention Station of Guangdong Province, Guangzhou* 510300)

**Abstract**: Seven kinds of hair dye are selected to lay on the skins of NIH strain mouse. After being touched with the hair dyes 7 times during 23 days, the mouse bone marrow cells and testis cells are collected to observe the chromosomal aberrations. The results show that all kinds of hair dye can induce the chromosomal aberration of mouse bone marrow cells and the aberration types include break, fragment, ring and so on. The ratios of chromosomal aberrations induced by three kinds of hair dye are statistically significant higher than control and the powdery types are the highest. Four kinds of hair dye of the seven have been to studied the chromosomal aberrations of the male mouse germinal cells. All of them induce the chromosomal aberration of the germinal cells (the aberration types include fragment, monovalent, quadrivalent), and the aberration ratios are statistically significant higher and the instant-oxidative types are the highest.

**Key words**: Hair dye, Chromosome aberration, Bone marrow cell, Germinal cell